

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-262838  
(43)Date of publication of application : 17.09.2002

---

(51)Int.Cl. A23L 2/66  
A23L 2/38

---

(21)Application number : 2001-064238 (71)Applicant : FUJI OIL CO LTD  
(22)Date of filing : 08.03.2001 (72)Inventor : KONO MITSUTAKA  
MIYAZAKI CHIAKI

---

## (54) PROTEIN BEVERAGE

### (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a protein beverage having excellent flavor and throat passableness and high preservation stability without precipitating in a weak acidic region.

**SOLUTION:** This protein beverage is obtained by separating and refining  $\beta$ -conglycinin which is a soybean protein fraction, degrading and removing phytic acid bound to the resultant  $\beta$ -conglycinin and thereby utilizing the  $\beta$ - conglycinin with a low content of phytic acid having a raised solubility in the weakly acidic region as a protein source.

---

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 30.08.2004  
[Date of sending the examiner's decision of rejection]  
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]  
[Date of final disposal for application]  
[Patent number]  
[Date of registration]  
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]  
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]  
[Date of extinction of right]

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

(19)日本国特許庁 (JP)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-262838

(P2002-262838A)

(43)公開日 平成14年9月17日 (2002.9.17)

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>A 2 3 L 2/66  
2/38

識別記号

F I

A 2 3 L 2/38  
2/00

テマコード\*(参考)

D 4 B 0 1 7  
J

審査請求 未請求 請求項の数7 O.L (全6頁)

(21)出願番号

特願2001-64238(P2001-64238)

(22)出願日

平成13年3月8日 (2001.3.8)

(71)出願人 000236768

不二製油株式会社

大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号

(72)発明者 河野 光登

茨城県筑波郡谷和原村綱の台4丁目3番地  
不二製油株式会社つくば研究開発センター内

(72)発明者 宮崎 千晶

茨城県筑波郡谷和原村綱の台4丁目3番地  
不二製油株式会社つくば研究開発センター内F ターム(参考) 4B017 LC02 LC03 LC07 LE10 LG08  
LK23 LP01 LP06 LP13

(54)【発明の名称】 たん白飲料

(57)【要約】

【課題】弱酸性域で沈殿することなく、風味、喉越しに優れ、保存安定性の高い大豆たん白質飲料およびその調製方法。

【解決手段】大豆たん白質画分である $\beta$ -コングリシニンを分取精製し、さらに得られた $\beta$ -コングリシニンに結合しているフィチン酸を分解・除去することで、弱酸性領域での溶解性を高めた低フィチン酸 $\beta$ -コングリシニンを、たん白質源として利用する。

**【特許請求の範囲】**

**【請求項1】**  $\beta$ -コングリシニンを主成分とし、低フィチン酸の大豆たん白質を用いるたん白飲料。

**【請求項2】** たん白質当たりの $\beta$ -コングリシニンの含量が60%以上である大豆たん白質を用いる請求項1に記載のたん白飲料。

**【請求項3】** フィチン酸含量が、たん白質当たり0.2%以下である大豆たん白質を用いる請求項1に記載のたん白飲料。

**【請求項4】** 大豆たん白質にフィチン酸分解酵素を作用させて得られた請求項3における低フィチン酸の大豆たん白質を用いる請求項1に記載のたん白飲料。

**【請求項5】** 種子中のたん白質の50%以上が $\beta$ -コングリシニンである大豆を用いて作製される請求項2、3に記載の大さたん白質を用いて得られる請求項1に記載のたん白飲料。

**【請求項6】** pHが弱酸性である請求項1記載のたん白飲料。

**【請求項7】** 弱酸性の条件で加熱殺菌を施して得られる請求項1に記載のたん白飲料。

**【発明の詳細な説明】****【0001】**

**【発明の属する技術分野】** 本発明は大豆たん白質を含有する飲料の調製方法および飲料に関する。

**【0002】**

**【従来の技術】** 大豆はたん白質栄養源として優れた食品である。このたん白質を摂取するのに飲料として摂取するのは望まれる形であるが、豆乳は保存安定性の高いとされる弱酸性領域では沈殿てしまい、また中性域では多くの人に好まれている味にはならず、利用が限られていた。一方、大豆から得られた分離大豆たん白質を主成分とする酸性の飲料を作ることは、特有の不快な臭い・味があること、酸性下で凝集・沈殿が生じやすく、それを分散させるには多糖類等の分散・安定化剤を必要とし、この分散・安定化剤添加に伴う粘度の上昇も含め、飲料として飲みづらいという問題点があった。

**【0003】** 大豆たん白質から、その主要構成成分のひとつである $\beta$ -コングリシニンを分画する方法は、過去多く提案されている。例えば、ウォルフら、タンラ、長野らの実験室的分画方法の研究・報告例や、この長野らの方法 (J. Agric. Food Chem., vol. 40, p941-944 (1992)) をプラントレベル化したとされるウラの方法 (JAOC S, vol. 76, No. 3, p285-293 (1999)) の他、特開昭48-56843号公報、特開昭49-31843号公報、特開昭51-86149号公報、特開昭55-124457号公報、特開昭55-153562号公報、特開昭56-64755号公報、特開昭57-132844号公報、特開昭58-36345号公報、特開昭61-18775号公報等多くの方法が提案されている。

**【0004】** また、大豆中にはフィチン酸が約2%含ま

れており、 $\beta$ -コングリシニンを含め大豆たん白質はフィチン酸との複合体を形成し、大豆たん白質の消化性を阻害していることが知られている。(リターら、J. Food Sci., 52, 325, 1987) さらに、このフィチン酸を始めとするリン酸化合物は、胃部に不快な「重い食感」を与え、リン酸化合物を分解・除去することにより、胃部に与えるこの不快な「重い食感」を軽減し、大豆たん白質飲料が飲みやすくなると、吉田らが報告している。(特開2000-245340)

**【0005】**

**【発明が解決しようとする課題】** 本発明は大豆たん白質を高濃度に含有しても保存安定性が高く、弱酸性域で沈殿が起こりにくく、かつ風味に優れたたん白飲料を得ることである。

**【0006】**

**【課題を解決するための手段】** 本発明者らは、上記課題について鋭意検討の結果、大豆たん白質の成分を分画することにより溶解性が改善されたたん白質を得られること、さらに大豆たん白質中のフィチン酸を低減させる事により、溶解性がさらに改善されしかも風味的にも優れた素材が得られ、これにより酸性のたん白飲料が作製可能となることを見出し発明を完成するに至った。

**【0007】** すなわち本発明は、大豆中のたん白質成分である $\beta$ -コングリシニンを主成分とするように大豆成分を分画し、かつ大豆中のフィチン酸を低減した大豆たん白質素材を得、これを用いてたん白飲料を提供するものである。

**【0008】** より詳しくは、本発明は大豆蛋白質の主要構成成分である $\beta$ -コングリシニンを分画し、蛋白質純度として60%以上(より好ましくは70%以上)に分画された $\beta$ -コングリシニンを主成分とし、さらにフィチン酸を対蛋白存在比0.2%以下(より好ましくは0.1%以下)にまで低減化した低フィチン酸大豆たん白質をたん白源として酸性たん白飲料用を提供するものである。

**【0009】**

**【発明の実施の形態】** 以下に本発明の好ましい態様を記載する。本明細書において、 $\beta$ -コングリシニンとは、一般に可溶性の球状蛋白質の総称であるグロブリンの中、分子量の超遠心沈降係数が7Sに相当するものを言う。グロブリンにはその分子量分布で2S、7S、11S、15Sが存在し、そのうち、7Sと11Sが大豆の様な豆科植物の貯蔵蛋白質には多量に含まれていることが知られている。

**【0010】** 本発明においては、大豆蛋白質から分画した $\beta$ -コングリシニンの含量の高い画分を主成分として用いる。大豆蛋白質から $\beta$ -コングリシニンの含量を高くするには、まず、グリシニン(11Sグロブリン)を除去する。その除去には、先に挙げたウ等の方法の他、現在各グロブリン成分の分画方法として広く用いられて

いるタン・シバサキの方法 (Thahn, V.H., and Shasaki, K., J. Agric. Food Chem., 24, 117, 1976) はもちろん、その他いわゆるクリオプレシピテーション (Briggs, D.R., and Mann, R.L., Cereal Chem., 27, 243, 1950) による冷却不溶区分 (Cold-insoluble fraction/CIFと呼ばれる) や、ウルフらによる 0.1 N 塩化カルシウム添加による分画法等のいずれの分画法によっても良い。(Wolf, W.J., and Sly, D.A., Cereal Chem., 44, 653, 1967) 上記いずれかの方法によりグリシンを除去した後、 $\beta$ -コングリシンを通常の分離大豆蛋白質の作製方法によって分画する。

【0011】ただし、この際上記の方法では用いられている還元剤は本発明では用いずとも十分使用に耐えうる純度の $\beta$ -コングリシンが分画でき、たん白質飲料として使用する場合も、還元剤を含まない方がより広い範囲の用途が期待できる。さらに得られた $\beta$ -コングリシンを主成分とする画分に、フィチン酸分解活性を有するフィターゼやホスファターゼのような酵素または、酵素剤を作用させ、フィチン酸を分解、除去することで、弱酸性下での溶解性を向上させることが出来る。

【0012】このフィチン酸が低減化された低フィチン酸 $\beta$ -コングリシンを分画する方法として、大豆蛋白質に直接フィチン酸分解活性を有するフィターゼやホスファターゼのような酵素または、酵素剤を作用させることで、グリシンの除去とを同時にを行うことも可能である。本発明に適用される大豆たんぱく質は利用する大豆たん白質の組成として、 $\beta$ -コングリシンのグリシンに対する比率が60%以上好ましくは70%以上である大豆たん白質 ( $\beta$ -コングリシン) が望ましい。

【0013】また、原料大豆として育種技術により $\beta$ -コングリシンを種子中の全蛋白質量の50%以上含有する大豆を用い、作製した分離大豆蛋白質を主成分とし、さらにフィチン酸を対蛋白存在比0.2%以下にまで低減化したものをたん白飲料用のたん白源として提供することも望ましい。

【0014】飲料中のたん白質量としては低フィチン酸 $\beta$ -コングリシンを1~10%含有するものが適当であるが、好ましくは5%以下が望ましい。低フィチン酸 $\beta$ -コングリシンが10%以上になると粘度が高くなるため、好ましくない。 $pH$ は低すぎると酸味が強く飲みにくくなり、また高すぎると保存性が悪くなるために $pH$ 3.0以上、 $pH$ 4.5以下、好ましくは $pH$ 3.5以上、 $pH$ 4.0以下が望ましい。

【0015】飲料を製造する際、味の嗜好性を高めるために、原料として糖、果汁を添加するが、さらに乳酸発酵風味付与のために、発酵乳などを用いることがある。ただし発酵乳を用いると、沈澱が生じることがある。その場合、公知の分散・安定化剤として例えば、水溶性大豆多糖類やハイメトキシルペクチンなどの単独あるいは、両者の併用の添加によりたん白質を分散させること

が望ましい。また飲料の製造では本発明の大豆たん白質とともに、他のたん白素材を含むことができる他、油脂、糖類、水、香料、調味料等の公知の原料を用いることができる。これらを必要な配合で混合し、均質化、殺菌等公知の方法で製造ができることができる。

#### 【0016】

【実施例】以下に、本発明を実施例により示すが、これらの例示によって本発明の技術思想が限定されるものではない。

#### 【0017】実施例1 〈低フィチン酸 $\beta$ -コングリシンの調製—その1—〉

脱脂大豆に1:10の重量割合で水を加え、随時 $pH$ を7.0に調整しながら1時間攪拌し、この混合物を遠心分離(4,000 r.p.m., 20℃で10分間)し、得られた上澄液を $pH$ 6.4に調整して、4℃にて一晩放置して、遠心分離(4,000 r.p.m., 4℃で10分間)して得られた上澄液を $pH$ 4.5に調整し、再度遠心分離(4,000 r.p.m., 4℃で10分間)し得られた沈殿物を回収して $\beta$ -コングリシンとした。この $\beta$ -コングリシン沈殿物に4倍量の水を加え、 $pH$ 6.0に調整後、フィターゼ(フィターゼノボル:ノボインダストリー社製)を蛋白質当たり0.2%添加後、40℃で1時間反応させた。この反応液を $pH$ 5.0に調整後、遠心分離(4,000 r.p.m., 20℃で10分間)してホエー画分を除き、得られた沈殿物に加水後、 $pH$ 7.0に中和して殺菌し、噴霧乾燥して低フィチン酸 $\beta$ -コングリシンを得た。このようにして得られた低フィチン酸 $\beta$ -コングリシンをSDS-ポリアクリラミドゲル電気泳動に供じ、その後染色された蛋白質のバンドの染色度の測定から、純度として71.2%あり、さらにフィチン酸含量が蛋白質当たり0.05%であり、フィチン酸がほぼ完全に分解、除去されていることを確認した。

#### 【0018】実施例2 〈低フィチン酸 $\beta$ -コングリシンの調製—その2—〉

脱脂大豆に1:10の重量割合で水を加え、随時 $pH$ を7.0に調整しながら1時間攪拌し、この混合物を遠心分離(4,000 r.p.m., 20℃で10分間)し、得られた上澄液を $pH$ 6.0に調整して、フィターゼ(フィターゼノボル:ノボインダストリー社製)を蛋白質当たり0.2%添加後、40℃で1時間反応させた。この反応液を $pH$ 6.2に調整後、遠心分離(4,000 r.p.m., 20℃で10分間)して得られた上澄液を、 $pH$ 5.0に調整し、再度遠心分離(4,000 r.p.m., 20℃で10分間)して得られた沈殿物を回収し、これに加水後、 $pH$ 7.0に中和して殺菌し、噴霧乾燥して低フィチン酸 $\beta$ -コングリシンを得た。このようにして得られた低フィチン酸 $\beta$ -コングリシンはSDS-ポリアクリラミドゲル電気泳動でのバンドの染色度の測定から、純度として78.6%

あり、さらにフィチン酸含量が蛋白質当たり0.05%であり、フィチン酸がほぼ完全に分解、除去されていることを確認した。

**【0019】比較例1** 〈 $\beta$ -コングリシニンの調製〉

実施例1における $\beta$ -コングリシニン沈殿物に加水後、pH 7.0に中和して殺菌し、噴霧乾燥して $\beta$ -コングリシニン粉末を得た。この $\beta$ -コングリシニンはSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動での染色度の測定から、純度として71.4%あり、以下の検討に十分耐えうる純度であることを確認した。さらにこのもののフィチン酸含量を測定したところ、蛋白質当たり1.74%であった。

**【0020】比較例2** 〈グリシニンの調製〉

実施例1での4°Cにて一晩放置して、遠心分離(4,000 r.p.m., 4°Cで10分間)して得られた沈殿物側を回収・加水後、pH 7.0に中和して殺菌し、噴霧乾燥したものとグリシニンとした。このようにして得られたグリシニンは、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動の結果、純度として85.7%あり、以下の検討に十分耐えうる純度であることを確認した。

**【0021】比較例3** 〈低フィチン酸グリシニンの調製〉

実施例1での4°Cにて一晩放置して、遠心分離(4,000 r.p.m., 4°Cで10分間)して得られた沈殿物側を回収・加水後、pH 6.0に調整し、フィターゼ(フィターゼノボル:ノボインダストリー社製)を蛋白質当たり0.2%添加後、40°Cで1時間反応させた。この反応液をpH 7.0に中和後、殺菌し、噴霧乾燥して低フィチン酸グリシニンを得た。このようにして得られた低フィチン酸グリシニンはSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動の結果、純度として83.9%あり、フィチン酸含量が蛋白質当たり0.04%であり、フィチン酸がほぼ完全に分解、除去されていることを確認した。

**【0022】比較例4** 〈通常分離大豆たん白質の調製〉

製造例1での脱脂大豆から得られた上澄液を、pH 4.5に調整し、遠心分離(4,000 r.p.m., 20°Cで10分間)して得られた沈殿物を回収後、この沈殿物に加水し、pH 7.0に中和して殺菌して、噴霧乾燥することで通常分離大豆たん白質を得た。

**【0023】比較評価1** 〈各分画物およびフィチン酸分解・除去分画物の溶解特性〉

実施例1および比較例1から4にて作製した各噴霧乾燥品について、5% (w/w) 試料溶液を調整し、各溶液のpHを塩酸で調整した後、12000 r.p.m.、10分間の遠心分離操作によって得られた上清のたん白質量の、全たん白質量に対する割合を求めた。図1に低フィチン酸 $\beta$ -コングリシニンと $\beta$ -コングリシニンおよび通常分離大豆たん白質、図2に低フィチン酸グリシニンとグリシニンおよび通常分離大豆たん白質の溶解特性を示す。

【0024】図1に示すようにフィチン酸を分解・除去された、低フィチン酸 $\beta$ -コングリシニンは一般的な酸性飲料のpH領域であるpH 4.0付近での溶解性が大きく向上している。さらに低フィチン酸 $\beta$ -コングリシニンの等電点による沈殿が生じるpH 4.5~5.5においても、生じる沈殿は分散しやすく、弱い搅拌で均一となり、また前述の分散剤を用いることにより飲料としてザラツキ等の問題ない分散液となった。これに比べ、フィチン酸が結合した状態の $\beta$ -コングリシニンや通常の分離大豆たん白質から生じる沈殿は簡単には分散せず、またザラツキの程度も高かった。またグリシニンについては、フィチン酸の有無による溶解特性の改善は見られず、等電点での沈殿も分散性が悪く、ザラツキの高いものであった。

**【0025】実施例3**

実施例2で得た低フィチン酸 $\beta$ -コングリシニンを用いて表1に示す配合で飲料を調製した。低フィチン酸 $\beta$ -コングリシニンと糖を水に溶解させ、果汁を添加した。50%酸液でpH 3.7に調整した後高压ホモゲナイザー(APV製)で150Kg/cm<sup>2</sup>の圧力により均質化した。その後フレーバーを添加し、95°C達温まで加熱、冷却した。

**【0026】**

**【表1】**

配合原料	重量部
低フィチン酸 $\beta$ -コングリシニン	3
グラニュー糖	7
グレープフルーツ果汁	2
50%酸液 (クエン酸: リンゴ酸=2:1)	1
グレープフルーツフレーバー	0.2
水	86.8

調製した飲料の風味は大豆臭の少ないすっきりとした風味の良いものであった。

**【0027】比較例5**

また比較例として、低フィチン酸 $\beta$ -コングリシニンを比較例1で得た $\beta$ -コングリシニンに代えて同様に飲料を調製した。結果、表2に示すように、比較例は不溶化してしまい、飲料として摂取しにくいものになった。また、風味も異臭・異味があり実施例3の方が優れていた。

**【0028】**

**【表2】**

保存性

pH	1週間 沈殿	2週間 沈殿	3週間 沈殿	4週間 沈殿		
低フィチン酸β-コンク <sup>+</sup> リシンニン	3.8	-	-	-	±	±
β-コンク <sup>+</sup> リシンニン	3.8	+	+	+	+	+

[記号の意味] 沈殿ー: 沈殿物なし ±: 沈殿物わずかにあり  
+: 沈殿物あり

#### 【0029】実施例4及び比較例6

実施例2で得た低フィチン酸β-コングリシニンを用いて表3に示す配合で飲料を調製した。大豆たんぱく質、液糖を水に溶解させ、あらかじめ温水に溶解させた水溶性大豆多糖類、ペクチン水溶液を高圧ホモ(150Kg/cm<sup>2</sup>)で均質化した。果汁、発酵乳、着色料、香料を加え、クエ

ン酸／リンゴ酸酸液でpH3.9に調製し、高圧ホモで均質化(150Kg/cm<sup>2</sup>)し95℃達温で加熱殺菌を行ないホットパック充填した。

#### 【0030】

##### 【表3】

配合原料	組成(重量%)
低フィチン酸β-コングリシニン	3.3
液糖	10.7
水溶性大豆多糖類	0.8
ペクチン	0.2
1/5濃縮りんご果汁	1.0
着色料	0.1
醸酵乳	2.0
50%酸液(クエン酸:リンゴ酸=2:1)	0.7
香料	0.4
水	80.9
合計	100.0

【0031】調製した飲料の風味は、大豆臭の少ない乳味のある、すっきりした風味の美味しいものであった。以上のサンプルは5℃、20℃、35℃の恒温槽でそれぞれ1ヶ月保存しても沈殿を生じることのない良好な飲料であった。また、保存性においても5℃で3ヶ月保存しても風味劣化ないものであった。比較例として、低フィチン酸β-コングリシニンを粉末状分離大豆たん白(不二製油株式会社製「フジプロ-E」)に代えて実施例1と同様に飲料を調製した。結果、比較例は異臭・異味があり、果汁との相性も悪く実施例2の方が風味に優っていた。また、比較例は3日目に沈殿を生じてしまった。

#### 【0032】実施例5及び比較例7

実施例3の配合・調製方法に従い、低フィチン酸β-コングリシニンとβ-コングリシニンについてpHを変えた飲料を作製した。それについて分散剤として用いている水溶性大豆多糖類・ペクチンを添加するものと添加しないものも作製し、それらの沈殿物の有無と飲料のザ

ラツキについて確認した。表4により低フィチン酸β-コングリシニンではpH3.6で分散剤を使用しなくても飲料が作製でき、またpH3.9で若干沈殿が生じるものザラツキのない飲料ができる。分散剤を用いれば、pH3.6~4.3でザラツキのない飲料ができる。一方β-コングリシニンでは分散剤なしでは分離・凝集してしまい、ザラツキもある。分散剤を加えてもpH4.3では良好な飲料は作製できなかった。

#### 【0033】

##### 【表4】

分散剤	低フィチン酸β-コングリシニン		分離大豆たん白		
	pH	沈殿	ザラツキ	沈殿	ザラツキ
分散剤あり	3.6	—	—	—	—
	3.9	—	—	±	±
	4.3	±	—	+	+
分散剤なし	3.6	—	—	++	++
	3.9	±	—	++	++
	4.3	++	+	++	++

#### 【0034】

[記号の意味] 沈殿ー: 沈殿物なし、±: 沈殿物わずかにあり、  
+: 沈殿物あり、++: 相当量の沈殿物あり

ザラツキー: ザラツキなし、±: わずかなザラツキあり、  
+: ザラツキあり、++: ひどいザラツキあり

## 【0035】

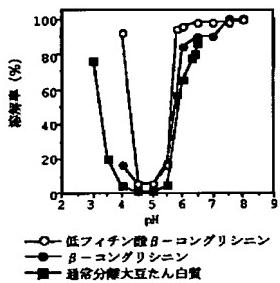
【発明の効果】本発明により、高たん白質含量でありながら風味良好で保存性のある大豆たん白飲料が得られる。

## 【図面の簡単な説明】

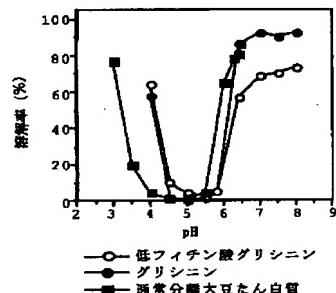
【図1】低フィチン酸 $\beta$ -コングリシニンと関連物質の溶解特性を示す。

【図2】グリシニン関連物質の溶解特性を示す。

【図1】



【図2】



PCT

世界知的所有権機関  
国際事務局  
特許協力条約に基づいて公開された国際出願



(51) 国際特許分類7 A23J 3/16, 3/34	A1	(11) 国際公開番号 <b>WO00/62623</b>
		(43) 国際公開日 2000年10月26日(26.10.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP00/02403		(81) 指定国 AU, CN, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)
(22) 国際出願日 2000年4月13日(13.04.00)		添付公開書類 国際調査報告書 請求の範囲の補正の期限前の公開；補正書受領の際には再公開される。
(30) 優先権データ 特願平11/108818 1999年4月16日(16.04.99) JP		(71) 出願人（米国を除くすべての指定国について） 不二製油株式会社 (FUJI OIL COMPANY, LIMITED)[JP/JP] 〒542-0086 大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号 Osaka, (JP)
(72) 発明者；および (75) 発明者／出願人（米国についてのみ） 津村和伸(TSUMURA, Kazunobu)[JP/JP] 齋藤 努(SAITOH, Tsutomu)[JP/JP] 釘宮 渉(KUGIMIYA, Wataru)[JP/JP] 〒300-2479 茨城県筑波郡谷和原村絹の台4丁目3番地 不二製油株式会社 つくば研究開発センター内 Ibaraki, (JP)		

(54)Title: PROCESS FOR PRODUCING SOYBEAN PROTEIN

(54)発明の名称 大豆蛋白の製造方法

(57) Abstract

A process whereby soybean protein containing a reduced amount of phytic acid and having a high solubility and a good taste can be produced on an industrial scale. This process comprises treating undenatured soybean protein or soybean protein with a low extent of denaturation with a microbial-origin phytic acid decomposing enzyme having an activity within a pH range of from 6 to 9 to thereby decompose phytic acid in a pH range of from 6 to 9.

(57)要約

未変性或いは低変性大豆蛋白を、pHが6～9の範囲で活性を有する微生物起源のフィチン酸分解酵素を使用して、pHが6～9の範囲でフィチン酸分解処理を施し、フィチン酸が低減され、しかも溶解性や風味の良い大豆蛋白を工業的に生産可能な製造法を提供する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

A E	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	K Z	カザフスタン	R U	ロシア
A G	アンティグア・バーブーダ	D Z	アルジェリア	L C	セントルシア	S D	スードン
A L	アルバニア	E E	エストニア	L I	リヒテンシュタイン	S E	スウェーデン
A M	アルメニア	E S	スペイン	L K	スリ・ランカ	S G	シングガポール
A T	オーストリア	F I	フィンランド	L R	リベリア	S I	スロヴェニア
A U	オーストラリア	F R	フランス	L S	レソト	S K	スロヴァキア
A Z	アゼルバイジャン	G A	ガボン	L T	リトアニア	S L	シエラ・レオネ
B A	ボズニア・ヘルツェゴビナ	G B	英国	L U	ルクセンブルグ	S N	セネガル
B B	バルバドス	G D	グレナダ	L V	ラトヴィア	S Z	スウェーデン
B E	ベルギー	G E	グルジア	M A	モロッコ	T D	チャード
B F F	ブルギナ・ファソ	G H	ガーナ	M C	モナコ	T G	トーゴー
B G G	ブルガリア	G M	ガンビア	M D	モルドバ	T J	タジキスタン
B J	ベナン	G N	ギニア	M G	マダガスカル	T M	トルクメニスタン
B R	ブラジル	G R	ギリシャ	M K	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	T R	トルコ
B Y	ベラルーシ	G W	ギニア・ビサオ	M L	共和国	T T	トリニダッド・トバゴ
C A	カナダ	H R	クロアチア	M N	マリ	T Z	タンザニア
C F	中央アフリカ	H U	ハンガリー	M R	モンゴル	U A	ウクライナ
C G	コンゴー	I D	インドネシア	M R	モーリタニア	U G	ウガンダ
C H	スイス	I E	アイルランド	M W	モーリシャス	U S	米国
C I	コートジボアール	I L	イスラエル	M X	マラウイ	U Z	ウズベキスタン
C M	カメルーン	I N	インド	M Z	メキシコ	V N	ベトナム
C N	中国	I S	アイスランド	N E	モザンビーク	Y U	ニゴースラヴィア
C R	コスタ・リカ	I T	イタリア	N L	オランダ	Z A	南アフリカ共和国
C U	キューバ	J P	日本	N O	オランダ	Z W	ジンバブエ
C Y	キプロス	K E	ケニア	N Z	ノルウェー		
C Z	チエコ	K G	キルギスタン	P L	ニュージーランド		
D E	ドイツ	K P	北朝鮮	P T	ポーランド		
D K	デンマーク	K R	韓国	R O	ポルトガル		

- 1 -

## 明 細 書

### 大豆蛋白の製造方法

#### 技術分野

本発明は、フィチン酸の低減された大豆蛋白の製造方法に関する。

#### 背景技術

大豆は、良質の蛋白質を多く含み、古くから優れた蛋白質給源として利用されてきた。特に分離大豆蛋白は、蛋白質含有量が高く且つ乳化性、ゲル化性、保水性等の様々な機能特性を備えていることから食品素材あるいは食品改質素材として、食肉製品、水産練り製品、惣菜、パン、製菓、飲料用素材等に幅広く用いられている。しかも、その栄養価も高いことより、蛋白供給源としては理想的なものである。大豆中には、約1%のリンが含まれており、その70~80%はフィチン態として存在していると言われている。フィチン酸（ミオ-イノシトールヘキサリン酸エステル）は、栄養上重要なミネラル成分（カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛など）とキレート結合して難溶解性の化合物を形成するので、生体中でこれら微量元素の吸収が低下したり、消化酵素に対して影響を示し得ることから除去あるいは低減されることが好ましい。

そこで、大豆中のフィチン酸を低減化する多くの試みがなされている。フィチン酸を低減化する為に、大豆蛋白の等電点近傍（pH 5付近）にて水や塩溶液にて洗浄する方法（特公平6-69345号公報、特開平9-121780号公報等）や電気透析にて除去する方法（特開平7-227215号公報等）が提案されている。しかし、これらの方法では製造操作が繁雑で、しかも多量の廃液処理が必要であり商業的生産に

は不適当である。

一方、フィチン酸を分解する酵素（フィターゼ）で分解する方法も知られている。大豆蛋白の等電点近傍或いはそれ以下（pH 2～6）にて微生物由来フィターゼで処理する方法（特表平4-503002号公報）、アルコール変性大豆蛋白（NSI 30以下）を等電点近傍（pH 5.5）で処理する方法（特開平6-86640号公報）、加熱処理された豆乳に植物起源のフィターゼを作用させる方法（特公平1-27706号公報）、中性で活性を持つフィターゼを用い、加熱殺菌された市販豆乳を処理すること（特開平6-38745号公報）が知られている。しかしながら上記方法では、酵素はほとんど大豆蛋白の等電点近傍或いはそれ以下のpH域（pH 2～6）で作用させており、本発明者等の知見によれば、溶解性や風味が劣化する一因となっている。また、作用させる基質の蛋白質濃度を高くしがたく効率が悪かったり、作用に長時間を要して異味異臭を生じがちであった。

### 発明の目的

本発明の目的は、フィチン酸が低減され、しかも溶解性や風味の良い大豆蛋白を工業的に生産可能な製造方法を提供することにある。

### 発明の概要

本発明者らは、上記課題を解決すべく銳意研究した結果、pHが6以上にて未変性或いは低変性大豆蛋白をフィチン酸分解活性を有する酵素で処理することで、フィチン酸が大幅に低減され且つ溶解性や風味の良い大豆蛋白を得ることが可能であることを見いだし本発明を完成したものである。即ち、本発明は未変性或いは低変性大豆蛋白にpHが6～9の範囲でフィチン酸分解活性を有する酵素を反応させることを特徴とす

る大豆蛋白の製造方法を提供するものである。そしてここで使用されるフィチン酸分解活性を有する酵素は、pHが6～9の範囲で活性を有する酵素、とりわけ微生物由来の酵素が好ましい。

### 発明の詳細な説明

大豆蛋白は、豆乳、濃縮豆乳、脱脂大豆等、大豆蛋白を含むものであれば可能であるが、未変性或いは低変性大豆蛋白を用いる。加熱等により過度に変性を受けた大豆蛋白をフィチン酸分解活性を有する酵素で処理をする場合、溶液の粘度上昇やゲル化状態になり、特に分離大豆蛋白や濃縮豆乳のように蛋白濃度が高い場合には、その処理や加工が困難になる。例えば、フィチン酸が低減された分離大豆蛋白を製造するには脱脂大豆をpH7～8で水抽出し、水不溶性画分（オカラ）と水溶性画分（豆乳）に分離し、該水溶性画分をpHが4.5付近で等電点沈殿させ、不溶画分（カード）と可溶画分（ホエー）に分離して酸沈殿カードを得て、該カードの水性懸濁液を中和し、殺菌・乾燥して製造する工程において、脱脂大豆から豆乳を抽出する工程或いは、酸沈殿カードを中和する工程に実施するのが効率よく実施できる。この時、使用する脱脂大豆は蛋白変性を伴わない若しくは蛋白変性が軽度である加工処理を行った所謂低変性脱脂大豆が好ましく、品種、産地等には限定されない。一般的には、n-ヘキサンを抽出溶剤として低温抽出処理を行った脱脂大豆が原料として適当であり、特にNSI（窒素可溶係数）が60以上、好ましくは80以上の低変性脱脂大豆が好ましい。大豆蛋白を含む溶液中の蛋白が加熱などにより変性を受けているか否かは、蛋白質のDSC（Differential Scanning Calorimetry）分析することにより判別することができる（Nagano et al., J. Agric. Food Chem., 40, 941-944(1992)）。この分析方法によれば、例えば、未変性の分離大豆蛋白の場合、その

主要構成成分である7Sグロブリン、11Sグリブリンに由来するそれぞれの吸熱ピークが認められるのに対して、過度の変性を受けている分離大豆蛋白の場合ではそれらの吸熱ピークが認められないので、変性の有無を容易に判別可能である。

本発明ではフィチン酸分解反応のpHが特に重要で、pH 6~9、好ましくはpH 6.0を越え、より好ましくはpH 6.2~8.5、更に好ましくはpH 6.5~7.5で実施するのが良い。pH 6未満で処理された大豆蛋白は、その溶解性が低下し、風味が悪くなり好ましくない。また、pHが9.0を越えても風味が悪くなり好ましくない。

従って、本発明で好適に用いられる酵素はpH 6以上の中性乃至アルカリ域でフィチン酸及びフィチン酸塩を分解可能な酵素であることが必要である。フィチン酸及びフィチン酸塩を分解可能な酵素としては、動物、植物及び微生物起源の酵素が挙げられるが、蛋白質当たりの活性（比活性）が比較的高い微生物起源の酵素が好適に使用される。例えば、微生物由来であれば、アスペルギルス属 (*Aspergillus*)、ペニシリウム属 (*Penicillium*)、バチルス属 (*Bacillus*)、シュードモナス属 (*Pseudomonas*)、サッカロマイセス属 (*Saccharomyces*)、クルイフェロマイセス属 (*Kluyveromyces*)、ノイロスボラ属 (*Neurospora*) から生産されるフィターゼが例示される。また、これら起源の酵素遺伝子を他の微生物にて発現させた酵素も使用できる。更にフィチン酸及びフィチン酸塩を分解可能なホスファターゼも含まれる。

酵素は粉末状や液体状の形態にかかわらず使用可能で、大豆蛋白中の粗蛋白質重量に対して0.01%~10重量%、好ましくは0.05%~2重量%、より好ましくは、0.1~1重量%程度の添加にて実施されるが、酵素力価とし0.1~100U/g粗大豆蛋白質、好ましくは

0. 5~20 U/g 粗大豆蛋白質、より好ましくは1~10 U/g 粗大豆蛋白質程度のフィターゼが添加されるのが好ましい。尚、酵素活性は、4 mM フィチン酸ナトリウムを含む0.2 M Tris-HCl 緩衝液(pH 6.5) 0.5 mL、蒸留水0.4 mL 及び酵素液0.1 mL からなる反応液を37°Cで30分間反応させ、10% TCA 1.0 mL を加え反応を停止する。この反応液中の無機リン酸含量を Fiske-Subbarow 方法により定量した。上記条件にて1分間に1マイクロモルの無機リン酸を遊離させる酵素量を1ユニット(U)とした。

酵素反応の温度と時間は、使用する酵素により決定できるが、通常20°C~80°C、好ましくは30°C~70°C、より好ましくは、40°C~60°Cで、10分~3時間、好ましくは30分~1時間反応する。また、酵素を固定化したカラムに通液することで、連続的に処理することも可能である。こうして得られる画分を公知の方法で中和、殺菌、乾燥して製造される。また、必要があれば得られた大豆蛋白に油脂及び/又は乳化剤を殺菌工程の前または殺菌工程の後、あるいは乾燥工程の後に添加することや、製造工程中に蛋白質分解酵素で処理することも任意である。さらにまた、UF 及び等電点での沈殿分離を施して、分解物を除去しても良い。尚、フィチン酸含量は、公知の方法例えば、Cereal Chem., 63, 475(1980) により測定できる。

通常の分離大豆蛋白が約2%のフィチン酸を含有するのに比べ、本発明で得られた大豆蛋白は、フィチン酸含量が0.2%程度以下は勿論、0.1%程度以下と大幅に低減され且つ本来の機能特性(溶解性等)や風味も損なわれていないので様々な食品素材等に使用可能であり、栄養面でも好ましい大豆蛋白が得られる。

以下、実施例により本発明の実施様態を具体的に説明する。ただし、本発明はこれらの実施例にその技術範囲が限定されるものではない。

- 6 -

### 実施例 1

低変性脱脂大豆（窒素可溶指数：N S I 9 2）1重量部に12重量部の水を加え、室温、pHが7において1時間抽出後、遠心分離し、脱脂豆乳を得、塩酸にてpHが4.5に調整し、遠心分離した沈殿画分（以下酸沈殿カードと謂う）を得た。酸沈殿カードに水を加え、充分分散させ（粗蛋白質量10重量%）、苛性ソーダでpHを6.5に調整後、フィターゼ（商品名「スミチームPHY」、新日本化学社製）を粗蛋白質重量に対して0.4重量%（4U/g粗大豆蛋白質）を加え、40°Cで1時間攪拌し、酵素反応を実施した。反応後、苛性ソーダでpHを7.1に再調整後、140°C、15秒殺菌し、これを噴霧乾燥し、大豆蛋白を得た。

### 実施例 2

実施例1の酸沈殿カードに水を加え、充分分散させ（粗蛋白質量10重量%）、苛性ソーダでpH=7.0に調整後、フィターゼ（商品名「スミチームPHY」、新日本化学社製）を粗蛋白質重量に対して0.4重量%（4U/g粗大豆蛋白質）を加え、40°Cで1時間攪拌し、酵素反応を実施した。反応後、140°C、15秒殺菌し、これを噴霧乾燥し、大豆蛋白を得た。

それぞれ得られた大豆蛋白のフィチン酸含量と溶解性、風味を、表1にまとめた。

### 比較例 1、2

実施例1で得た酸沈殿カードに水を加え、充分分散させ（粗蛋白質量10重量%）、苛性ソーダでpHを5.5（比較例1）及びpHを5.0（比較例2）に調整後、フィターゼ（商品名「スミチームPHY」、新日本化学社製）を粗蛋白質重量に対して0.4重量%（4U/g粗大豆蛋白質）を加え、40°Cで1時間攪拌し、それぞれ酵素反応を実施し

- 7 -

た。反応後、苛性ソーダでpHを7.0に再調整後、140°C、15秒殺菌し、これらを噴霧乾燥し、大豆蛋白を得た

それぞれ得られた大豆蛋白のフィチン酸含量と溶解性、風味を、表1にまとめた。

(表1)

処理のpH	フィチン酸含量	溶解性 (NSI)	風味
6.5 (実施例1)	0.05%	8.5	良好
7.0 (実施例2)	0.06%	8.7	良好
5.5 (比較例1)	0.04%	6.5	やや悪い
5.0 (比較例2)	0.04%	5.5	渋味がある

以上のようにpHが6以上で処理することで、溶解性も風味も優れ、フィチン酸も低減された大豆蛋白が得られることが判る。

### 実施例3

実施例1の脱脂豆乳(pH7.0)に、フィターゼ(商品名「スミチームPHY」、新日本化学社製)を粗蛋白質重量に対して0.4重量% (4U/g粗大豆蛋白質)を加え、40°Cで1時間攪拌し、酵素反応を実施した。反応後、直ちに塩酸にてpHを4.5に調整、遠心分離して酸沈殿カードを得て、これを水に分散させ、苛性ソーダでpHを7.0に調整し、140°C、15秒殺菌、噴霧乾燥して大豆蛋白を得た。得られた大豆蛋白はフィチン酸含量0.04%、溶解性(NSI)8.9で風味も良好であった。

### 実施例4

市販納豆より分離したBacillus subtilisを0.1重量%CaC12

、1重量%D-マンノース、1重量%グルコース、1.5重量%酵母エキス、2.5重量%ハート・インヒュージョンプロス(Difco製)からなる液体培地(pH 7.4)に接種し、37°C、5日間振とう培養し、培養上清液を得た。培養上清液を限外ろ過膜(分画分子量1万)で濃縮、DEAE-トヨパールカラムクロマトにてフィターゼの部分精製画分を得た(40U/ml)。

実施例1の酸沈殿カードに水を加え、充分分散させ(粗蛋白質量10重量%)、苛性ソーダでpHを7.5に調整後、前記Bacillus属由来部分精製フィターゼを粗蛋白質重量に対して10U/g粗大豆蛋白質を加え、40°Cで1時間攪拌し、酵素反応を実施した。反応後、140°C、15秒殺菌し、これを噴霧乾燥し、大豆蛋白を得た。得られた大豆蛋白はフィチン酸含量0.03%、溶解性(NSI)90で風味も良好であった。

### 実施例5

丸大豆を水に一夜浸漬し、浸漬大豆(水分約50%)1部に水2.5部をグラインダーで生吳を調製した。この生吳を遠心分離機にかけ、豆乳とおからに分離し、得られた豆乳(固体分9重量%、粗蛋白質4.5重量%)を真空濃縮機で濃縮豆乳(固体分13重量%、粗蛋白質6.5重量%)を調製した。この濃縮豆乳(pH 6.2)にフィターゼ(商品名「スミチームPHY」、新日本化学社製)を粗蛋白質重量に対して0.4重量%(4U/g粗大豆蛋白質)を加え、40°Cで1時間攪拌し、酵素反応を実施した。反応後、直ちに苛性ソーダでpHを7.0に調整し、140°C、15秒殺菌した。得られた濃縮豆乳はフィチン酸含量0.07%、溶解性(NSI)86で風味も良好であった。

### 比較例3

実施例5と同様に調製した生吳を95°C、5分間加熱し、速やかに2

0°Cまで冷却し遠心分離機にかけ、豆乳とおからに分離した。得られた豆乳（固体分9重量%、粗蛋白質4.5重量%）を真空濃縮機で濃縮した。この濃縮豆乳（固体分13重量%、粗蛋白質6.5重量%、pH6.2）にフィターゼ（商品名「スミチームPHY」、新日本化学社製）を粗蛋白質重量に対して0.4重量%（4U/g粗大豆蛋白質）を加え、40°Cで攪拌し、酵素反応を開始した。反応開始直後より粘度が上昇し、次第にゲル状になった。よって加熱された濃縮豆乳での実施は困難であった。

- 1 0 -

## 請 求 の 範 囲

1. 未変性或いは低変性大豆蛋白にpHが6～9の範囲でフィチン酸分解活性を有する酵素を反応させることを特徴とする大豆蛋白の製造方法。
2. フィチン酸分解活性を有する酵素が、pHが6～9の範囲で活性を有する酵素である請求項1記載の製造方法。
3. フィチン酸分解活性を有する酵素が、微生物由来の酵素である請求項1または2記載の製造方法。